

氏名	清 水 鈴 菜
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	学 術
学位授与番号	博甲第2396号
学位授与の日付	平成14年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科エネルギー転換科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	タバコ野火病菌-植物相互作用におけるべん毛及びフラジェリンの 機能解析 -べん毛変異株を用いた解析-
論文審査委員	教授 白石 友紀    教授 稲葉 昭次    教授 杉尾 剛

#### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

植物病原細菌による感染は、宿主植物への侵入、吸着、増殖過程を経て成立し、その後発病因子により病徴発現に至る。植物病原細菌のべん毛はこれらのうち侵入に必要な運動器官であり、感染の成立に重要な因子であると考えられているが、その植物相互作用における機能は不明である。最近、当研究室ではタバコ野火病菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*) の培養上清から非宿主トマトに細胞死を伴う激しい防御応答(過敏反応、HR)を誘導する因子としてべん毛構成タンパク質、フラジェリンを見い出した。

そこで本研究では本菌のフラジェリン遺伝子 *fliC* と単量体フラジェリンを重合するHAP2タンパク質の遺伝子 *fliD* を各々欠失した2種のべん毛変異株を作出し、植物相互作用におけるべん毛及びフラジェリンの機能解析を試みた。これら2種のべん毛変異株は共にべん毛を欠損し運動能を失ったが、 $\Delta fliC$ 変異株がフラジェリンを全く生産しないのに対し、 $\Delta fliD$ 変異株は細胞外に多量の単量体フラジェリンを分泌した。これらの変異株を非宿主トマトに接種すると、 $\Delta fliD$ 変異株の接種では極めて強いHR反応が誘導されたのに対し、 $\Delta fliC$ 変異株の接種ではHRを誘導しないばかりか、病原菌であるpv. *tomato*の接種と同様に病徴を引き起こした。この結果は、pv. *tabaci*の単量体フラジェリンが非宿主トマトに対する強力かつ主要なHR誘導因子であることを示している。次に、これらの菌を宿主タバコに接種すると、いずれの変異株も野生株レベルの病原性を示さなかったことから、べん毛は宿主植物に対する病原性因子の一つであることが明らかにされた。しかしながら、 $\Delta fliD$ 変異株接種では病徴発現が遅れるのに対し、 $\Delta fliC$ 変異株接種では病徴は誘導されず、むしろ非病原接種時のような反応を誘導した。このことは、pv. *tabaci*の単量体フラジェリンが宿主タバコの防御応答を抑制していることを示唆している。

以上の結果から、べん毛は宿主への感染において重要な病原性因子であること、単量体フラジェリンは非宿主植物に対するHR誘導因子として働くことが明らかにされた。更に、単量体フラジェリンは宿主植物に対しては病原性因子として機能している可能性が推察された。

## 論文審査結果の要旨

本論文は植物病原細菌と植物との相互作用におけるべん毛並びにべん毛の主要構成タンパク質であるフラジェリンの機能について2種のべん毛変異株を用いて研究したものである。これまでべん毛の病原性における役割について断片的な解析報告はあったが、本研究ではフラジェリンが過敏細胞死を含む防御応答を誘導するエリシターであるとの本研究室での研究成果をもとにべん毛とフラジェリンの機能解析をフラジェリンをコードする*fliC*遺伝子の欠損変異株 $\Delta fliC$ に加え、フラジェリンをポリメライズするHAP2タンパク質の*fliD*遺伝子の欠損変異株 $\Delta fliD$ を作出して遂行した点が極めて新規であり特徴であると言える。特に*fliD*変異株はべん毛は形成しないがフラジェリン単量体を大量に細胞外に分泌する変異株でありフラジェリンの機能解明に大変有効であったと言える。これらの変異株をタバコ野火病菌の非宿主トマトと宿主タバコに接種することにより、べん毛が病原性に必要であること、本菌の単量体フラジェリンがトマトに対する主要で強力なエリシターであるとともにタバコに対しては防御応答を抑制する因子であることを提唱した。植物は病原細菌に特有なべん毛フラジェリン構造を認識して防御応答を始動させるメカニズムを構築してきたと考えられる。一方で、病原細菌が宿主に対して親和性関係を築くためには宿主の防御応答を回避、或いは抑制するメカニズムを獲得する必要があったと思われる。申請者はタバコ野火病菌を材料にそのフラジェリンが宿主タバコの防御応答を抑制する活性を有する可能性を初めて指摘した。

以上、記したように、本論文は植物病原細菌のべん毛とフラジェリンの植物との相互作用における機能を分子遺伝学的に解明した研究として高く評価できるものである。以上のことから、本論文は博士（学術）に値する論文であると判断した。